

附件 2：鳖甲配方颗粒新疆中药配方颗粒标准制定草案公示稿

鳖甲配方颗粒

Biejia Peifangke

【来源】 鳖科动物鳖 *Trionyx sinensis* Wiegmann. 的干燥背甲经炮制并按标准汤剂的主要质量指标加工制成的配方颗粒。

【制法】 取鳖甲饮片 10000g，加水煎煮，滤过，滤液浓缩成清膏（干浸膏出膏率为 2.5%~7%），加入辅料适量，干燥（或干燥，粉碎），再加入辅料适量，混匀，制粒，制成 1000g，即得。

【性状】 本品为类白色至黄白色的颗粒；气微腥，味微咸。

【鉴别】 （1）取本品适量，研细，取 1g，加甲醇 5ml，超声处理 20 分钟，滤过，取滤液作为供试品溶液。另取鳖甲对照药材 3g，加水 70ml，煎煮 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 5ml，同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法（《中国药典》2020 年版四部通则 0502）试验，吸取供试品溶液 2 μ l、对照药材溶液 8 μ l，分别点于同一用 3%醋酸钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上，以正丁醇-乙醇-冰醋酸-水（4：1：1：2）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以茚三酮试液，在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

（2）取本品适量，研细，取 0.1g，加 1%碳酸氢铵溶液 50ml，超声处理 30 分钟，用微孔滤膜滤过，取续滤液 1ml，置进样瓶中，加胰蛋白酶溶液 50 μ l（取序列分析用胰蛋白酶，加 1%碳酸氢铵溶液制成每 1ml 中含 1mg 的溶液，临用时配制），摇匀，37 $^{\circ}$ C 恒温酶解 12 小时，作为供试品溶液。另取鳖源多肽 I 对照品、鳖源多肽 II 对照品，加 1%碳酸氢铵溶液制成每 1ml 含鳖源多肽 I 3 μ g 和鳖源多肽 II 6 μ g 的混合溶液，作为对照品溶液。照高效液相色谱法-质谱法（中国药典 2020 年版通则 0512 和通则 0431）试验，以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为 100mm，内径为 2.1mm，粒径为 1.7 μ m 至 1.8 μ m）；以乙腈为流动相 A，以 0.05% 甲酸溶液为流动相 B，按下表中规定进行梯度洗脱；流速为每分钟 0.35ml。采用质谱检测器，

电喷雾正离子模式化（ESI）正离子模式下进行多反应监测（MRM），选择质荷比（ m/z ）784.90（双电荷） \rightarrow 872.46和 m/z 784.90（双电荷） \rightarrow 1028.55作为鳖源多肽 I 的检测离子对， m/z 834.09（三电荷） \rightarrow 743.38和 m/z 834.09（三电荷） \rightarrow 953.52作为鳖源多肽 II 检测离子对。进行检测，色谱峰的信噪比均应大于3:1。取上述混合对照品溶液，进样2 μ l，按上述检测离子对测定的MRM色谱峰的信噪比均应大于3:1。

梯度洗脱表

时间（分钟）	流动相A(%)	流动相B(%)
0~2	8 \rightarrow 9	92 \rightarrow 91
2~14	9 \rightarrow 10	91 \rightarrow 90
14~25	10 \rightarrow 17	90 \rightarrow 83
25~26	17 \rightarrow 80	83 \rightarrow 20
26~28	80	20

吸取供试品溶液 2 μ l，注入高效液相色谱-质谱联用仪，测定。以质荷比（ m/z ）784.90（双电荷） \rightarrow 872.46， m/z 784.90（双电荷） \rightarrow 1028.55 和以质荷比（ m/z ）834.09（三电荷） \rightarrow 743.38 和 m/z 834.09（三电荷） \rightarrow 953.52 离子对提取的供试品离子流色谱中，应同时呈现与相应对照品色谱保留时间一致的色谱峰。

【特征图谱】 照高效液相色谱法（中国药典 2020 年版通则 0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 同【含量测定】项。

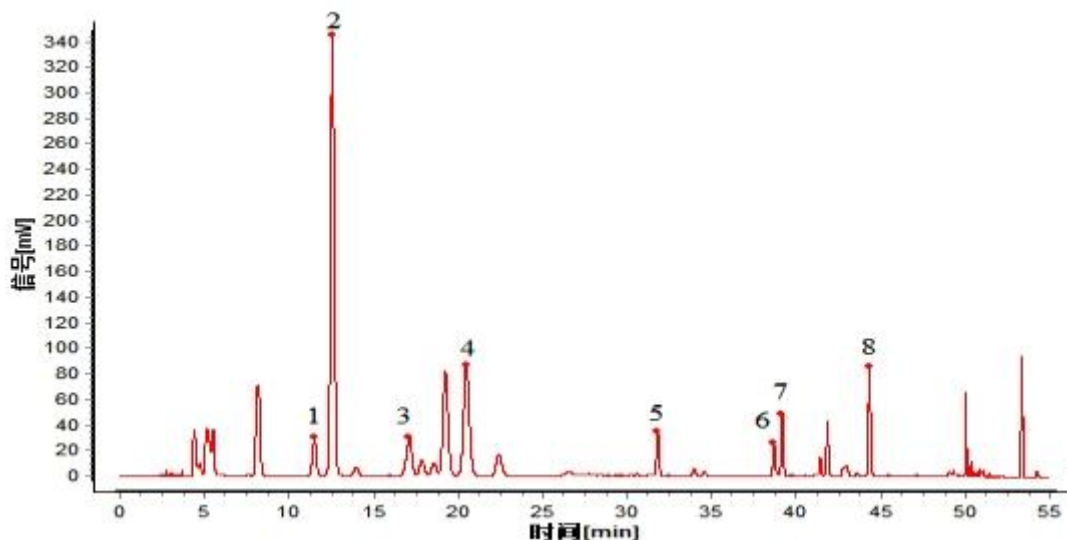
参照物溶液的制备 取鳖甲对照药材 0.1g，置于具塞水解管中，加入 9mol/L 盐酸溶液 10ml，密塞，150 $^{\circ}$ C 水解 3 小时放冷，摇匀，滤过，量取滤液 5ml，置蒸发皿中，蒸干，残渣用 0.1mol/L 盐酸溶液溶解，并转移至 25ml 量瓶中，加 0.1mol/L 盐酸溶液至刻度，摇匀，作为对照药材参照物溶液。另取【含量测定】项下的对照品溶液，作为对照品参照物溶液。再取丝氨酸对照品、精氨酸对照品、异亮氨酸对照品、亮氨酸对照品、L-赖氨酸对照品适量，加 0.1mol/L 盐酸溶液制成每 1ml 各含 50 μ g 的混合溶液，作为对照品参照物溶液。

供试品溶液的制备 同【含量测定】项。

取上述参照物溶液与供试品溶液各 5ml，分别置 25ml 量瓶中，各加 0.1mol/L 异硫氰酸苯酯（PITC）的乙腈溶液 2.5ml 和 1mol/L 三乙胺的乙腈溶液 2.5ml，摇匀，室温放置 1 小时后，加 50% 乙腈稀释至刻度，摇匀。取 10ml，加正己烷 10ml，振摇，放置 10 分钟，取下层溶液，滤过，取续滤液，即得。

测定法 分别精密吸取衍生化后的参照物溶液与供试品溶液各 5 μ l, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

供试品色谱中应呈现 8 个特征峰, 并应与对照药材参照物色谱中的 8 个特征峰保留时间相对应, 且应分别与相应对照品参照物峰保留时间相对应。



对照特征图谱

峰 1: 丝氨酸; 峰 2: 甘氨酸; 峰 3: 精氨酸; 峰 4: 脯氨酸;
峰 5: 缬氨酸; 峰 6: 异亮氨酸; 峰 7: 亮氨酸; 峰 8: L-赖氨酸
色谱柱: Kromasil 100-5C18

【检查】应符合颗粒剂项下有关的各项规定(中国药典 2020 年版通则 0104)。

【浸出物】取本品适量, 研细, 取约 2g, 精密称定, 精密加入乙醇 100ml, 照醇溶性浸出物测定法(中国药典 2020 年版四部通则 2201)项下的热浸法测定, 不得少于 4.0%。

【含量测定】照高效液相色谱法(中国药典 2020 年版通则 0512)测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以乙腈-0.1mol/L醋酸钠溶液(用醋酸调节pH值至 6.5)(7:93)的混合溶液为流动相A, 以乙腈-水(4:1)的混合溶液为流动相B; 按下表中的规定进行梯度洗脱; 柱温为 30 $^{\circ}$ C; 检测波长为 254nm。理论板数按脯氨酸峰计算应不低于 4000。

梯度洗脱表		
时间（分钟）	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~9	100→97	0→3
9~22	97	3
22~23	97→83	3→17
23~32	83→82	17→18
32~38	82→70	18→30
38~45	70→66	30→34
45~47	66→0	34→100
45~55	0	100

对照品溶液的制备 取甘氨酸对照品、脯氨酸对照品、缬氨酸对照品适量，精密称定，加 0.1mol/L 盐酸溶液制成每 1ml 含甘氨酸 0.54mg、脯氨酸 0.32mg、缬氨酸 70μg 的混合对照品溶液，即得。

供试品溶液的制备 取本品适量，研细，取约 0.2g，精密称定，置于氨基酸水解管中，精密加入 9mol/L 盐酸溶液 10ml，称定重量，150℃ 水解 3 小时，取出，放冷，再称定重量，用 9mol/L 盐酸溶液补足减失重量，摇匀，滤过，精密量取滤液 5ml，置蒸发皿中，蒸干，残渣用 0.1mol/L 盐酸溶液使溶解，并转移至 25ml 量瓶中，加 0.1mol/L 盐酸溶液稀释至刻度，摇匀，即得。

精密量取上述对照品溶液和供试品溶液各 5ml，分别置 25ml 量瓶中，各加 0.1mol/L 异硫氰酸苯酯（PITC）的乙腈溶液 2.5ml 和 1mol/L 三乙胺的乙腈溶液 2.5ml，摇匀，室温放置 1 小时后，用 50% 乙腈稀释至刻度，摇匀。取 10ml，加正己烷 10ml，振摇，放置 10 分钟，取下层溶液，滤过，取续滤液，即得。

测定法 分别精密吸取衍生化后的对照品溶液与供试品溶液各 5μl，注入液相色谱仪，测定，即得。

本品每 1g 含甘氨酸（C₂H₅NO₂）应为 35.0mg~148.0mg、含脯氨酸（C₅H₉NO₂）应为 20.0mg~79.0mg、含缬氨酸（C₅H₁₁NO₂）应为 3.0mg~15.0mg。

【规格】 每 1g 配方颗粒相当于饮片 10g。

【贮藏】 密封。